

Streszczenie rozprawy doktorskiej w języku polskim

Alarmujący problem otyłości i towarzyszących jej następstw, takich jak cukrzyca typu 2 czy choroby sercowo-naczyniowe obejmuje coraz większą część populacji, w szczególności dotyczy to krajów rozwiniętych. Siedzący tryb życia oraz dieta bogatotłuszczowa sprzyjają gromadzeniu się kwasów tłuszczowych nie tylko w tkance tłuszczowej, ale również w innych tkankach i narządach, takich jak np. serce. Głównym źródłem energetycznym mięśnia sercowego są kwasy tłuszczowe, które stanowią około 60% wszystkich substratów energetycznych, zaś pozostałe 40% stanowią węglowodany (około 30% glukoza i około 10% kwas mlekowy). Obecność w błonach komórkowych białek, znanych jako transportery glukozy (GLUT-1 i GLUT-4) oraz transportery kwasów tłuszczowych (receptor zmiatający klasy B CD36 - CD36, błonowe białko wiążące kwasy tłuszczowe - FABPpm oraz białka transportujące kwasy tłuszczowe typu 1, 4 i 6 - FATP1, 4 i 6) wpływa na stopień, w jakim owe substraty energetyczne są wykorzystywane przez serce do produkcji energii w postaci ATP. Opisany powyżej stosunek wykorzystania substratów energetycznych może ulec zmianie w niektórych stanach patologicznych, m.in. w przypadku otyłości, gdzie dochodzi do zwiększenia dostępności kwasów tłuszczowych. Prowadzi to do wzrostu ich wykorzystania jako źródła energii kosztem zużycia glukozy. Skutkuje to zmniejszeniem utleniania glukozy oraz spadkiem wydajności mięśnia sercowego. Kannabigerol (CBG) jest fitokannabinoidem pozyskiwanym z rośliny *Cannabis sativa*. Mechanizmy działania CBG przekładają się na szeroki zakres potencjalnych zastosowań terapeutycznych, takich jak działanie przeciwzapalne czy neuroprotektoryjne. Nadal jednak brakuje doniesień ukazujących wpływ CBG na metabolizm mięśnia sercowego. Celem niniejszej pracy była ocena wpływu CBG na metabolizm szczurzych kardiomiocytów H9c2 w warunkach zwiększonej dostępności kwasów tłuszczowych.

Doświadczenia zostały przeprowadzone na szczurzych kardiomioblastach H9c2 różnicowanych w kierunku kardiomiocytów z wykorzystaniem kwasu retinowego. Hodowla komórkowa prowadzona była z użyciem standardowych mediów hodowlanych typu zmodyfikowana pożywka Dulbecco Eagle (DMEM) z dodatkiem płodowej surowicy bydlęcej (FBS), kwasu 4-(2-hydroksyetylo)piperazyno-1-etanosulfonowego (HEPES), aminokwasów (glicyna, L-alanina, L-asparagina, kwas L-asparaginowy, kwas L-glutaminowy, L-prolina i L-seryna) oraz antybiotyków (1% penicylina/streptomycyna) w 37°C i atmosferze 5% CO₂. Przeprowadzony

eksperyment został podzielony na dwa etapy. W pierwszym etapie analizowano wpływ CBG na wewnątrzkomórkową akumulację lipidów. W tym celu zróżnicowane kardiomiocyty poddawano działaniu palmitynianu (PA) w stężeniu 300 μM oraz CBG w stężeniach 2,5 μM , 5 μM oraz 10 μM przez 18 godzin. Drugi etap miał na celu ocenę wpływu CBG w stężeniu 10 μM na insulinowrażliwość kardiomiocytów w warunkach aktywacji szlaku insulinowego. Kardiomiocyty były również inkubowane w medium hodowlanym typu DMEM pozbawionym glukozy i surowicy bydlęcej przez 4 godziny. Ostatnim etapem była 10-minutowa inkubacja z dodatkiem 100 nM insuliny.

Do określenia zawartości wybranych frakcji lipidowych (wolne kwasy tłuszczowe [FFA], diacyloglicerol [DAG], triacyloglicerol [TAG] oraz fosfolipidy [PL]) wykorzystano chromatografię gazowo-cieczową. Całkowitą ekspresję wybranych białek zaangażowanych w metabolizm lipidów i kwasu arachidonowego, transport glukozy oraz kwasów tłuszczowych, a także białek insulinowego szlaku przekazywania sygnału i elementów układu endokannabinoidowego określono przy użyciu techniki Western blot. Badanie wychwytu glukozy przeprowadzono metodą kolorymetryczną. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software, La Jolla, Kalifornia, USA), przyjmując wartość $p < 0,05$ za istotną statystycznie.

Z przeprowadzonych badań wynika, że inkubacja kardiomiocytów H9c2 z CBG w najwyższym badanym stężeniu (10 μM) w warunkach zwiększonej dostępności kwasów tłuszczowych wpływa na obniżenie zawartości DAG, jak również nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) i kwasu arachidonowego w obrębie wspomnianej frakcji lipidowej. Ponadto, najwyższe stężenie CBG zmniejszyło ekspresję dwóch kluczowych transporterów kwasów tłuszczowych, tj. CD36 oraz FABPm oraz istotnie obniżyło poziom enzymów, tj. cytozolowej fosfolipazy A₂ (cPLA₂), cyklooksygenazy-1 (COX-1) oraz COX-2. Nie zaobserwowaliśmy jednak istotnych zmian w wielkości wychwytu glukozy ani w ekspresji insulinowrażliwego transportera GLUT-4. Przepuszczalnie, 18-godzinny okres inkubacji mógł być niewystarczający do wywołania owych zmian.

Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że CBG w najwyższym badanym stężeniu (10 μM) wpływa na metabolizm kardiomiocytów H9c2 poprzez wpływ na magazynowanie i wykorzystanie kwasów tłuszczowych, a jednocześnie modyfikację szlaków zapalnych aktywowanych w warunkach nadmiaru kwasów tłuszczowych. Wskazuje to na potencjalne protekcyjne zastosowanie CBG w stanach związanych z nadmierną dostępnością kwasów tłuszczowych.

Sylvia Dziemitko